

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifiques

جامعة سعد دحلب البليدة-1-

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA-1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master dans le domaine SNV

Filière : Science Biologique

Spécialité : Génétique

Thème

**Intérêt de la quantification de la charge virale du cytomégalovirus
par PCR en temps réel après transplantation rénale.**

Présenté par :

Soutenu le :

Benaissa Melissa

10/07/2025

Sadji selma

Devant le jury

Noms	Grade/lieu	Qualité
Dr Benyahia N.	MAA/USDB1	Président
Dr Sifi M.	MCB/USDB1	Examinatrice
Dr BERKANI L.	MAA/CHU Ben Messous	Promotrice
Dr AISSANI-EL FARTAS R.	MCB/USDB1	Co-promotrice

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à Dieu pour nous avoir donné la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous remercions sincèrement notre encadrante, Docteur **BERKANI Lylia**, responsable de l'unité d'histocompatibilité et d'immunogénétique au niveau du service d'immunologie médicales de CHU ISSAD HASSANI pour son accompagnement, ses conseils précieux, sa disponibilité et sa bienveillance tout au long de ce projet. Son expertise et son soutien ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Nous remercions également notre Co-promotrice, Madame **AISSANI-EL FERTAS Radia**, pour son soutien, ses orientations constructives et sa bienveillance.

On saisit cette occasion pour remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer notre travail. Nous remercions Monsieur **BEN YAHIA** d'avoir Accepté de présider le jury de notre Soutenance, ainsi Madame **SIFI** d'avoir acceptée d'examiner notre travail, nous comptons sur vos remarques sans doute enrichissantes, ainsi qu'à tous les enseignants de **l'Université SAAD DAHLEB – Blida 1** qui nous ont transmis les connaissances et fourni les outils nécessaires à la réussite de notre parcours universitaire.

Un grand merci à nos familles, en particulier à nos parents, pour leur amour, leur soutien moral et leur confiance inconditionnelle tout au long de nos études.

Enfin, nous remercions chaleureusement nos collègues, amis et camarades de promotion pour leur aide, leur encouragement et les bons moments partagés.

Melissa & Selma

Dédicace

Je souhaite dédier cet humble travail

À mon cher père **Fateh Benaissa**,

Et à ma chère mère **Fazia Boukheriss**,

Pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leur patience et leurs prières qui m'ont toujours accompagnée. Que ce travail soit le reflet de ma reconnaissance profonde.

À ma sœur **Lilia Benaissa** et à mon frère **Youcef Benaissa**,

Pour leur affection, leur soutien constant et leur présence rassurante.

À ma nièce **Aline**,

Petite étoile qui illumine nos vies de sa douceur et de son innocence.

À mon amie fidèle, **Khoukhi Khadija Douaa**,

Pour sa générosité, son soutien indéfectible, et les liens sincères qui nous unissent.

À **Souha Selmane**,

Pour son amitié précieuse, ses encouragements sincères et les beaux souvenirs partagés au fil de ce parcours.

À une personne discrète mais chère à mon cœur,

Qui se reconnaîtra sans être nommée — merci pour ton soutien, ta patience et ta précieuse présence.

À tous ceux qui m'ont soutenue, inspirée ou encouragée,

Je vous dédie ce travail avec gratitude et affection.

Melissa

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents sans qui, je ne serais pas celui que je suis aujourd'hui.

À celui qui a embelli mon nom par les plus beaux titres, Celui qui m'a soutenue sans limites et donné sans rien attendre en retour, Celui qui m'a appris que la vie est un combat, et que son arme est le savoir et la connaissance, Celui qui a semé en moi les plus nobles valeurs, Mon premier soutien, ma force, mon refuge après Dieu, Ma fierté et mon honneur : **Papa Halim.**

À celle à qui Dieu a placé le paradis sous ses pieds, Celle dont le cœur m'a étreinte avant ses bras, Celle qui a adouci mes épreuves par ses prières, À ce cœur tendre, à cette chandelle qui a éclairé mes nuits sombres, Ma source de force, de réussite et de lumière sur mon chemin, L'éclat de ma vie : **Maman Farida.**

À mon petit frère Mohamed, Celui qui a mis de la lumière dans mes journées les plus sombres, Celui dont le sourire suffisait à apaiser mes fatigues, Merci d'être ma source de tendresse, d'espoir et de motivation. Je suis fière de toi, et je te porte dans mon cœur à chaque étape de mon chemin.

À mon cher époux **Chamseddine**, Pour ton amour, ton soutien constant, ta patience dans les moments difficiles, et ta foi en mes capacités. Tu as été ma force silencieuse.

À ma famille adorée **Sadji et Djaout :**

mes grand-mères, mes chères tantes , mes oncles, mes cousines et toute ma famille élargie, Merci pour votre amour, vos prières et vos encouragements qui m'ont portée jusqu'ici.

À **ma belle-famille abbas**, Pour votre accueil, votre bienveillance et vos mots toujours encourageants. Vous avez été un appui discret mais sincère.

À mon chère binome **Melissa** pour son soutien et son courage.

À mes amies les plus chères **Douaa, Meriem, Nihed , saher, kenza** , Celles qui m'ont accompagnée, écoutée, motivée et soutenue tout au long de ce parcours exigeant.

À mes petites princesses, Sirine, Sarah, Yasmine, Khaoula, Ritadj, Tasnime, Aya, Belkise, Les filles de mon oncle que j'aime comme mes propres filles ou mes petites sœurs, Votre présence illumine ma vie de tendresse, de rires et de douceur. Vous avez une place précieuse dans mon cœur.

Selma

Résumé

La transplantation rénale constitue le traitement de référence pour les patients atteints d'insuffisance rénale chronique terminale, en raison de ses bénéfices sur la qualité de vie et la survie. Cependant, l'immunosuppression post-greffe expose les receveurs à des infections opportunistes, notamment par le cytomégalovirus humain (HCMV), l'un des agents infectieux les plus fréquents dans ce contexte.

Cette étude vise à évaluer l'intérêt de la quantification de la charge virale du CMV par PCR en temps réel dans le suivi post-transplantation, et à analyser l'association entre certains facteurs immunologiques (compatibilité HLA) et virologiques (profil sérologique donneur/receveur) et le risque d'infection.

Nous avons mené une étude rétrospective sur 81 couples donneur/receveur recrutés entre décembre 2021 et avril 2025 au CHU Beni Messous. Les données cliniques, biologiques et immunogénétiques ont été extraites des dossiers médicaux.

Les résultats montrent que 48,53 % des patients présentaient une charge virale détectable après la greffe, dont 27,84 % dépassaient le seuil de traitement ($\geq 3 \log_{10}$ copies/mL). Le profil sérologique R+/D+ était le plus fréquent (86 %). Le test du Chi² n'a révélé aucune corrélation significative entre ce profil et l'apparition de l'infection ($p = 0,47$), mais a mis en évidence une association significative entre une compatibilité HLA de 50 % et l'infection à CMV ($p = 0,021$).

Ces résultats confirment la pertinence de la qPCR pour une surveillance virologique précoce chez les patients greffés. L'analyse conjointe des facteurs immunologiques et virologiques permet d'identifier les patients à haut risque et d'adapter la prise en charge afin de préserver la fonction du greffon.

Mots clés : Transplantation rénale, cytomégalovirus humain (HCMV), PCR en temps réel, virémie, identité HLA, statut sérologique CMV, suivi virologique.

Abstract

Kidney transplantation is considered the standard treatment for patients with end-stage chronic kidney disease, due to its benefits on quality of life and survival. However, post-transplant immunosuppression exposes recipients to opportunistic infections, particularly human cytomegalovirus (HCMV), one of the most common infectious agents in this setting.

This study aims to assess the usefulness of quantifying CMV viral load using real-time PCR in post-transplant monitoring, and to analyze the association between certain immunological (HLA compatibility) and virological (donor/recipient serological profile) factors and the risk of CMV infection.

We conducted a retrospective study involving 81 donor/recipient pairs recruited between December 2021 and April 2025 at Beni Messous University Hospital. Clinical, biological, and immunogenetic data were collected from medical records.

The results showed that 48.53% of patients had a detectable viral load post-transplant, of whom 27.84% exceeded the treatment threshold ($\geq 3 \log_{10}$ copies/mL). The R+/D+ serological profile was the most common (86%). The Chi-square test revealed no statistically significant correlation between this profile and infection ($p = 0.47$), but did show a significant association between 50% HLA compatibility and CMV infection ($p = 0.021$).

These findings confirm the relevance of qPCR for early virological monitoring in kidney transplant recipients. Combined assessment of immunological and virological factors helps identify high-risk patients and tailor management strategies to preserve graft function.

Keywords: Kidney transplantation, human cytomegalovirus (HCMV), real-time PCR, viral load, HLA matching, CMV serostatus, virological monitoring.

المخلص

تُعد زراعة الكلى العلاج المرجعي لمرضى الفشل الكلوي المزمن في مرحلته النهائية، وذلك لما توفره من تحسين في جودة الحياة وزيادة في معدلات البقاء. غير أن العلاج المثبط للمناعة بعد الزرع يعرض المرضى للإصابة بعدوى انتهازية، لاسيما تلك الناجمة عن الفيروس المضخم للخلايا البشري (HCMV)، والذي يُعد من أكثر العوامل المعدية شيوعًا في هذا السياق.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم أهمية قياس الحمل الفيروسي لفيروس HCMV بتقنية PCR في الوقت الحقيقي في إطار المتابعة بعد الزرع، كما تهدف إلى تحليل العلاقة بين بعض العوامل المناعية (توافق HLA والعوامل الفيروسية (النمط المصلي للواهب/المتلقي) وخطر الإصابة بعدوى HCMV.

أجرينا دراسة استعادية شملت 81 ثنائيًا من الواهين والمتلقين تم تجنيدهم بين ديسمبر 2021 وأبريل 2025 في مستشفى بني مسوس الجامعي. وقد تم جمع المعطيات السريرية والبيولوجية والمناعية من الملفات الطبية.

أظهرت النتائج أن 48.53% من المرضى كانت لديهم حمولة فيروسية قابلة للكشف بعد الزرع، و 27.84% منهم تجاوزوا عتبة العلاج (≤ 3 لوغ/10 نسخ/مل). كما كان النمط المصلي R+/D+ هو الأكثر شيوعًا (86%). لم تُظهر اختبارات χ^2 ارتباطًا ذا دلالة إحصائية بين هذا النمط المصلي وحدوث العدوى ($p = 0.47$)، لكنها أظهرت علاقة معنوية بين توافق HLA بنسبة 50% وحدوث العدوى ($p = 0.021$).

تؤكد هذه النتائج على أهمية qPCR في المتابعة الفيروسية المبكرة للمرضى المزروع لهم كلى، كما أن التقييم المشترك للعوامل المناعية والفيروسية يتيح تحديد المرضى المعرضين لخطر مرتفع وتكييف العلاج بما يحافظ على وظيفة الكلية المزروعة.

الكلمات المفتاحية: زرع الكلى، الفيروس المضخم للخلايا البشري (HCMV)، PCR في الوقت الحقيقي، الحمل الفيروسي، تطابق

HLA، الوضع المصلي لفيروس CMV، المراقبة الفيروسية.

Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique du génome du HCMV.	7
Figure 2. Cycle viral du Cytomégalo virus (Cristescu, C, (2022)).	8
Figure3. Schéma général de la réponse immunitaire spécifique du CMV (Kaminski et al., 2016)	9
Figure 4. Expression des gènes UL133-UL138 et leur rôle dans la latence ou la réactivation (Cristescu, C, 2022).	10
Figure 5. Détection des étalons de quantification (CMV QS 1 à 4) dans le canal Cycling Green.	17
Figure 6. Répartition des receveurs selon le sexe.	19
Figure 7. Répartition des donneurs selon le sexe.....	19
Figure 8. Répartition des donneurs et des receveurs selon les tranches d'âge.....	20
Figure 9. Répartition des donneurs selon leur lien de parenté avec le receveur.	20
Figure 10. Distribution de la population selon l'année de la transplantation rénale.....	21
Figure 11. Étiologies de l'insuffisance rénale dans notre cohorte	22
Figure 12. identité HLA dans notre population.	22
Figure 13. Statut sérologique du Cytomégalo virus chez les donneurs et les receveurs.	23
Figure 14. Répartition des receveurs selon la charge virale du CMV	24
Figure 15. Répartition des symptômes cliniques de l'infection à CMV	25
Figure 16. Répartition selon le nombre de tests par patient.....	25

Liste des tableaux

Tableau I : Schéma de surveillance biologique du patient transplanté selon HAS 2007 et KDIGO 2010 (Kara HadjSafi et <i>al.</i> , 2017)	6
Tableau II. Caractéristiques des méthodes de diagnostic du CMV post-greffe.	10
Tableau III. Répartition des profils sérologiques CMV selon la charge virale chez les patients transplantés rénaux.	25
Tableau IV. Répartition des patients selon l'identité HLA et la charge virale du CMV.	26

Liste des abréviations

ADN:	Acide Désoxyribonucléique
Ag:	Antigène
CHU:	Centre Hospitalo-Universitaire
CMV:	Cytomégalovirus
D/R:	Donneur / Receveur
DFG:	Débit de Filtration Glomérulaire
EDTA:	Acide Éthylène Diamine Tétracétique
GCV:	Ganciclovir
HLA:	Human Leukocyte Antigen (Antigène Leucocytaire Humain)
IC:	Internal Control (Contrôle Interne)
IgG /IgM:	Immunoglobuline G / Immunoglobuline M
IRT:	Insuffisance Rénale Terminale
KDIGO:	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
PCR:	Polymerase Chain Reaction (Réaction en Chaîne par Polymérase)
qPCR:	Polymerase Chain Reaction en temps réel
QIAamp:	Kit d'extraction d'ADN viral (Qiagen)
UI:	Unité Internationale
VGCV:	Valganciclovir

Sommaire

Remerciement.....	
Dédicace	
Résumé	
Abstract.....	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	14

Chapitre I: Rappels Bibliographiques

I. Transplantation rénale	3
I. 1. Pathologies rénales nécessitant une transplantation	3
I .2. Conditions de la transplantation rénale	4
I. 2. 1. Sélection des donneurs	4
I. 2.2 Suivi du Greffon	5
II.Infection à cytomégalovirus chez les transplantés rénaux	6
II. 1.Caractéristiques moléculaires et infectieuses du CMV	7
II. 2. Diagnostiques des infections à CMV	11
II. 3. Facteurs de risque d'une infection à CMV chez les transplantés rénaux.....	11
II. 4. CMV et transplantation rénale : risques infectieux et stratégies de surveillance.....	12

Chapitre II: Matériels et Méthodes

I. Matériel.....	13
I. 1. Matériel biologique	13
I. 2. Matériel non biologique	13
II. Méthodes	14
II. 1. Extraction de l'ADN viral par le kit QIAamp.....	14
II. 2. Amplification de l'ADN viral par PCR en temps réel	15
III. Test statistique	17

Chapitre III: Résultats et Discussion

I .Caractéristiques démographiques	19
I. 1. Répartition des receveurs selon le sexe	19
I. 2. Répartition des donneurs selon le sexe.....	19
I. 3. Répartition des receveurs et des donneurs selon l'âge	19
I. 4. Lien de parenté	20
I. 5. Date de la transplantation rénale	20
II. Profils cliniques et génétique de la population étudiée	21
II. 1. Etiologie de l'insuffisance rénale	21
II. 2. Identité de HLA.....	22
III. Infection à CMV et suivi du greffon.....	22
III.1 Statut sérologique du cytomégalo virus chez les donneurs et les receveurs.....	22
III. 2. Quantification de la charge virale du CMV par qPCR chez les receveurs après transplantation.....	23
III. 3. Délai entre la transplantation et la première charge virale positive.....	24
III. 4 Symtomes cliniques de l'infection à CMV chez les receveurs.....	24
IV. Facteurs de risque liés à l'infection à CMV	25
IV. 1 Sérologie CMV	25
IV.2 Identité HLA	26

Discussion.....	26
Conclusion	32
Références.....	34
Annexes	37

Introduction

L'insuffisance rénale terminale est un problème de santé publique majeur, qui nécessite des solutions thérapeutiques efficaces et durables. La transplantation rénale reste actuellement la meilleure alternative, permettant d'améliorer significativement la qualité de vie des patients. Toutefois, cette intervention repose sur l'administration prolongée de traitements immunosuppresseurs indispensables à la prévention du rejet du greffon, mais qui affaiblissent en même temps les défenses immunitaires du transplanté. Dans ce contexte d'immunodépression, différents types d'infection peuvent survenir, notamment l'infection par le cytomégalo virus (CMV), un virus ubiquitaire de la famille des Herpesviridae, qui représente une menace pour la santé d'un transplanté rénal. Le CMV est l'un des virus les plus largement répandus à travers le monde. Sa séroprévalence varie selon les régions, atteignant 40 à 70 % dans les pays développés et jusqu'à 90 % dans les pays en développement. En Algérie, plusieurs études ont confirmé une forte séroprévalence, particulièrement chez les sujets immunodéprimés tels que les transplantés rénaux. Cette prévalence élevée accroît le risque de réactivation virale post-greffe, rendant la surveillance du CMV d'autant plus essentielle dans ce contexte. En effet, cette infection peut engendrer de graves complications chez ces patients, affectant leur état de santé général et la survie du greffon. La quantification de la charge virale du CMV, réalisée par des techniques telles que la PCR en temps réel, s'est imposée comme un outil essentiel dans la surveillance post-greffe. Elle permet de détecter précocement la réplication virale, d'adapter les traitements antiviraux de façon ciblée et ainsi de prévenir les formes sévères d'infection. La surveillance virologique permet non seulement d'intervenir plus tôt face à une infection, mais aussi de limiter les complications induites par le virus, contribuant ainsi à une meilleure gestion globale du suivi post-transplantation.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer l'intérêt de la quantification de la charge virale du cytomégalo virus dans le suivi post-transplantation rénale, afin d'optimiser la prise en charge clinique et de prévenir les complications liées à l'infection virale. Dans notre étude, nous avons :

- Décrit les profils sérologiques des patients greffés rénaux vis-à-vis du CMV (statuts D/R) et leur lien avec le risque d'infection post-greffe.
- Analysé l'incidence des infections à CMV chez les patients transplantés, en fonction des profils immunovirologiques et des facteurs de risque.
- Évalué l'apport de la PCR en temps réel dans la détection précoce de la réplication virale active chez les patients suivis.

Chapitre I

Rappels Bibliographiques

I. Transplantation rénale

Plus de 50 ans après le succès des deux premières transplantations rénales réalisées à Boston et à l'hôpital Necker à Paris, la transplantation rénale est devenue le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale, car elle améliore non seulement la qualité de vie des patients, mais aussi leur quantité de vie (**Anglicheau et al. 2019**). La transplantation rénale consiste à greffer un rein sain provenant d'un donneur, chez un patient atteint d'insuffisance rénale terminale (IRT), afin de rétablir une fonction rénale normale (**Gondran-Tellier et al. 2020**). La fréquence de la transplantation rénale varie selon les pays et de nombreux facteurs génétiques, écologiques, sociaux et culturels conditionnent cette fréquence. Entre 2003 et 2016, l'incidence de l'IRT traitée est restée stable dans les pays à revenu élevé, mais a augmenté en Asie de l'Est et du Sud-Est. La prévalence mondiale de l'IRT traitée s'accroît, en raison de l'amélioration de la survie, du vieillissement de la population, de l'augmentation des facteurs de risque et d'un meilleur accès aux traitements (**Thurlow et Nephrol, 2021**).

I. 1. Pathologies rénales nécessitant une transplantation

La principale cause d'une transplantation rénale est l'insuffisance rénale chronique (IRC). C'est une diminution progressive et irréversible du fonctionnement des reins sur plusieurs mois ou années et qui correspond à une diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG), le paramètre sanguin utilisé pour évaluer la fonction rénale. Lorsque le DFG devient inférieur à 15 ml/min on parle d'IRC terminale, c'est à ce stade de la maladie qu'un traitement de suppléance de la fonction rénale devient nécessaire (hémodialyse, dialyse ou transplantation) (**Gondran-Tellier et al. 2020**). Les principales causes d'IRC sont :

- 30% l'athérosclérose c'est-à-dire les maladies cardio-vasculaires principalement Hypertension artérielle.
- 30% le diabète et l'hyperglycémie prolongé qui détruit les structures rénales.
- 15% les glomérulonéphrites, c'est-à-dire les atteintes d'un constituant du rein, les glomérules.

- 10% la polykystose rénale, maladie héréditaire qui détruit le rein via la croissance de très nombreux kystes.

I.2. Conditions de la transplantation rénale

La transplantation rénale nécessite une préparation rigoureuse du donneur et du receveur, en phase pré-transplantation, afin d'assurer la compatibilité et le succès de la greffe. Il existe deux types principaux de donneurs :

- **Donneurs vivants** : il s'agit le plus souvent d'un membre de la famille compatible (frère, sœur, parent). Ce type de greffe offre généralement de meilleurs résultats à long terme. En Algérie, il est encadré par la loi sanitaire **n° 85-05**, modifiée par la loi **n° 90-17**.
- **Donneurs décédés** : les reins sont prélevés sur des personnes en état de mort cérébrale, avec l'accord préalable de la personne (consentement exprimé de son vivant) ou, à défaut, celui de la famille (**Snanoudj et Legendre, 2016**). En Algérie, ce type de transplantation est régi par la **loi n° 18-11** relative à la santé.

I. 2. 1. Sélection des donneurs

Il existe différentes barrières génétiques et immunologiques à la transplantation: la barrière de l'espèce, des groupes sanguins, des complexes majeurs d'histocompatibilité et la barrière des antigènes mineurs. Il est donc essentiel d'analyser tous ces paramètres afin de sélectionner le donneur qui sera le plus compatible afin de minimiser les risques de rejet (**Georgescu et al. 2007**). D'autres critères sont également pris en compte tels que : Son état de santé général, l'absence d'infections transmissibles ou de pathologies rénales ainsi que son âge et sa fonction rénale (**Saint-Aubert et al. 2020**).

Le typage HLA permet d'évaluer le niveau de correspondance immunogénétique entre donneur et receveur. Plus la compatibilité est élevée, plus les chances de réussite de la greffe sont importantes. Les loci HLA les plus importants à analyser dans la transplantation rénale sont :

- HLA-A qui code pour les molécules classe I.
- HLA-B qui code pour les molécules classe I.
- HLA-DR qui code pour les molécules classe II.

Il est important de noter que les greffes d'organes compatibles au niveau des antigènes HLA A, B et DR ne représentent que 5 % des cas environ. En effet, le rejet humoral à travers l'activité des anticorps anti-HLA, constitue la cause la plus fréquente de perte du greffon. La transplantation rénale nécessite un bilan immunologique avant la greffe. La recherche des anticorps anti-HLA permet de mettre en évidence la présence d'éventuels anticorps dans le sérum du receveur qui seraient dirigés contre les antigènes HLA du donneur (Donor Specific Antibody; DSA). Ces anticorps apparaissent suite à une immunisation par des grossesses, des transfusions ou des greffes et sont délétères pour le greffon et exposent au risque de rejet humoral (**Driss Bourhanbour et al. 2021**).

I. 2. Suivi du Greffon

Les greffés sont des patients immunodéprimés ; ils ont un risque plus élevé de contracter une infection, de développer une insuffisance rénale aiguë, des néoplasies et d'interactions médicamenteuses avec leurs immunosuppresseurs (**Kara et al. 2017**). Après la transplantation, le suivi du greffon est crucial pour garantir le bon fonctionnement du rein transplanté et prévenir les complications. Une partie importante de la surveillance porte sur le suivi des comorbidités du patient transplanté et des conséquences de l'insuffisance rénale chronique (**Frimat et al. 2009**). L'évaluation de la fonction rénale par dosage de la créatininémie à chaque consultation, est très importante puisque la détérioration de la fonction rénale est souvent asymptomatique. L'Histologie du rein est l'examen de référence pour l'évaluation du statut du greffon. Une analyse morphologique du greffon est recommandée annuellement et sera couplée à une analyse des reins natifs à la recherche de pathologies tumorales, volontiers silencieuses ou de lithiases rénales (**Kara HadjSafi et al. 2017**). Quant à l'évaluation biologique du patient transplanté, un schéma de surveillance inspiré des recommandations françaises de la Haute Autorité de santé (HAS) de 2007 et des KDIGO de 2010 est proposé dans le **Tableau I** (**Anglicheau et al. 2015**).

Comme nous pouvons le constater dans ce tableau, une surveillance régulière de la charge virale du Cytomégalo virus humain (HCMV) par PCR est essentielle. En effet, les complications infectieuses sont une cause majeure de morbi-mortalité (**Fishman, 2007**), puisque 80 % des transplantés présentent au moins un épisode infectieux. Ceci est la conséquence du traitement immunosuppresseur. Leur symptomatologie peut être modifiée par l'immunosuppression, qui participe à masquer certains symptômes. Tous les types d'infections peuvent se manifester chez le patient transplanté, à côté des infections bactériennes classiques (pulmonaires et urinaires), on retiendra particulièrement trois infections opportunistes :

infection à CMV, infection à *pneumocystis carinii* et infection à BK virus (Kara HadjSafi et al. 2017).

Tableau I : Schéma de surveillance biologique du patient transplanté selon HAS 2007 et KDIGO 2010 (Kara HadjSafi et al. 2017)

Surveillance biologique	Fréquence du suivi
NFS, CRP, glycémie, calcémie, phosphatémie, transaminases, bilan lipidique, créatinine et estimation du DFG, protéinurie, bandelette urinaire et ECBU si positif	1fois/1 à 2 semaines les trois premiers mois puis 1fois/mois et 1fois /1 à 4 mois au-delà d'un an
Suivi pharmacologique des immunosuppresseurs	1fois/1 à 2 semaines les trois premiers mois puis 1fois/mois et 1fois /1 à 4 mois au-delà d'un an
HBA1c	A J0, 3mois puis annuellement ou 4 fois/an chez le diabétique
Bilan lipidique	Tous les six mois
Uricémie	1 fois/an
Magnésémie	En cas de symptômes cliniques ou signes biologiques
Dosage de vitamine 25(OH)D, PTH et TSH	A 3mois, 12 mois puis tous les ans
Anticorps anti HLA	1 fois/an, en cas de rejet, après le traitement d'un rejet aigu humoral, en cas de diminution de l'immunosuppression ou d'évènements immunisant
PCR CMV	En cas de de signes cliniques et biologiques évocateurs ou pour le suivi du traitement curatif d'une maladie à CMV
PCR BK virus	1 fois/mois, tous les trois mois puis 1 fois/an pendant 2 ans
PCR EBV	1 fois/3 mois chez les D+ /R-
Anticorps anti-Hbs	1 fois /an
PCR VHB	Tous les 3 mois en cas d'hépatite chronique B traitée
TP, alfa-foetoprotéine	1 fois /an en cas d'hépatite chronique B ou C

II. Infection à cytomégalo virus chez les transplantés rénaux

L'infection à cytomégalo virus est l'une des complications infectieuses les plus fréquentes et graves après une transplantation rénale, avec une incidence variant de 43 % à 92% (Van Drop et al. 1993). Elle peut se manifester sous forme asymptomatique ou entraîner une atteinte tissulaire sévère, contribuant à la morbidité, à la perte du greffon, voire à la mortalité du patient transplanté. Le risque d'infection à CMV après transplantation rénale dépend de plusieurs facteurs, notamment du statut sérologique pré-greffe du donneur et du receveur. L'infection survient le plus souvent entre le 2^e et le 4^e mois après la greffe, avec un pic au cours du deuxième mois.

Les complications liées à l'infection à CMV peuvent inclure des formes invasives, notamment des pneumopathies et des atteintes gastro-intestinales. Le diagnostic repose sur des techniques sensibles telles que la recherche d'IgG/IgM, l'antigénémie pp65 et la PCR en temps réel. Le traitement curatif repose sur le ganciclovir, tandis qu'un traitement prophylactique est fortement recommandé pour limiter la morbidité et la mortalité (Van Drop et al. 1993).

II. 1. Caractéristique moléculaires et infectieuses du CMV

Le HCMV est un virus enveloppé à ADN double brin. C'est le plus grand membre de la famille des *Herpesviridae*. Il a été isolé pour la première fois en 1956. Avec le virus de la roséole (HHV6) et le HHV 7, il fait partie de la sous-famille des *betaherpesvirinae*. Le génome du HCMV est un grand ADN double brin linéaire de 236 kbp, composé de deux régions uniques (UL et US) et de régions terminales (TRL et TRS) ainsi que de répétitions internes (IRL et IRS). Son organisation est schématiquement représentée comme ab-UL-b'a'c'-US-ca (Figure 1).



Figure 1. Représentation schématique du génome du HCMV.

Le HCMV infecte divers types cellulaires, avec un cycle réplcatif qui dure entre 48 et 72 heures. Ce cycle comprend une phase d'éclipse (entrée du virus dans la cellule), une phase

de croissance (synthèse des protéines et de l'ADN viral), puis l'assemblage et la libération des nouveaux virions (**Figure 2**). Le mécanisme complet de cette réplication reste cependant encore partiellement inconnu.

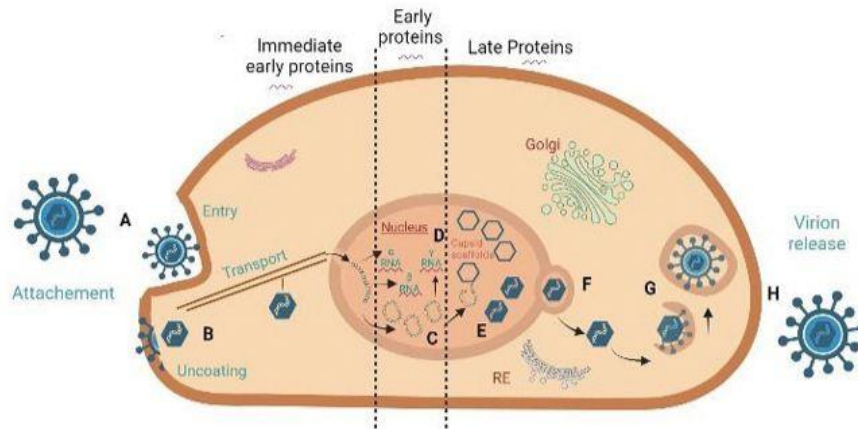


Figure 2. Cycle viral du Cytomégalovirus (Cristescu, 2022).

Les moyens mis en jeu par le système immunitaire pour se défendre contre le CMV sont multiples et se sont diversifiées. La mise en réponse immunitaire spécifique au CMV est illustrée dans la figure 3. Le tropisme cellulaire du CMV est très étendu dans les cellules humaines. En effet, la plupart des cellules sont permissives pour le virus qui se dissémine par voie hématogène lors d'une primo-infection. Sa dissémination est favorisée lors du détachement des monocytes, des cellules dendritiques infectées, des cellules endothéliales. Les cellules CD34 et les monocytes représentent des sites de latence du virus. La différenciation de ces monocytes infectés par le CMV en macrophages peut initier une infection productive. Les virus sont donc apprêtés par les cellules dendritiques, qui activent les cellules T, CD8 et CD4, et des cellules B, permettant la production d'anticorps neutralisants. La réponse innée implique les cellules natural killer (NK), monocytes et cellules dendritiques. De plus, à l'interface immunité innée et adaptative, on trouve les lymphocytes $T\gamma\delta$ qui peuvent induire la lyse directe des cellules infectées par le virus ou bloquer la réplication du virus à travers des cytokines tels que l' $IFN\gamma$ et le $TNF\alpha$.

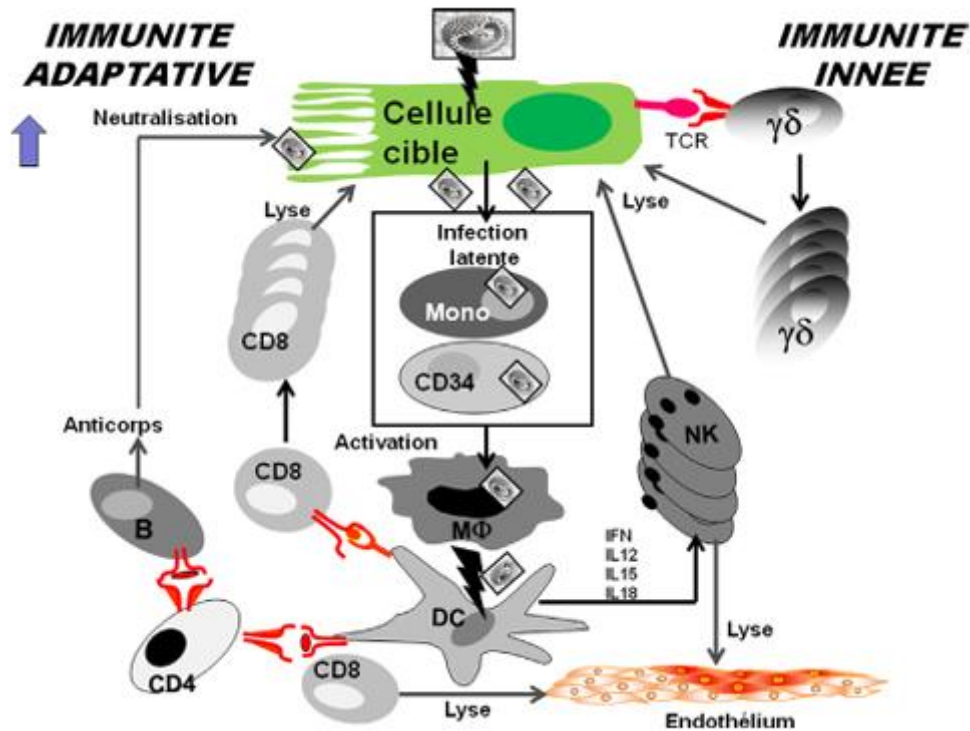


Figure3.Schéma général de la réponse immunitaire spécifique du CMV (Kaminski et al. 2015)

Mono : monocytes ; TCR : récepteur T à l'antigène ; $\gamma\delta$: lymphocyte T $\gamma\delta$; B : lymphocyte B ; CD8 : lymphocyte T CD8⁺ ; CD4 : lymphocyte T CD4⁺ ; MF : macrophage ; NK : cellule natural killer ; IL : interleukine ; IFN : interféron ; DC : cellule dendritique ; CD34⁺ : cellule progénitrice CD34⁺.

Le HCMV peut persister dans l'organisme de part sa latence, tout en échappant au système immunitaire. En phase de latence, généralement dans les précurseurs myéloïdes CD34⁺, le virus ne se réplique pas et son génome est stable dans les cellules. Les gènes *UL133*, *UL135*, *UL136* et *UL138* sont impliqués dans la gestion de cette latence et de sa réactivation. Le gène *UL138* est impliqué dans le maintien de cette latence, alors que *UL135* favorise la réactivation du virus en interagissant avec des protéines cellulaires (Figure 4) (Cristescu, 2022).

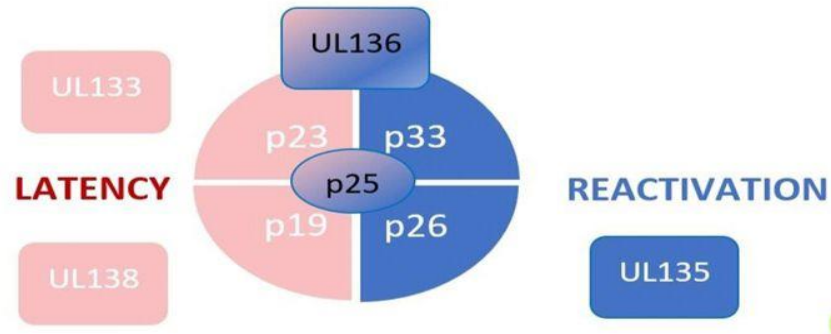


Figure 4. Expression des gènes UL133-UL138 et leur rôle dans la latence ou la réactivation (Cristescu, 2022).

II. 2. Diagnostic des infections à CMV

Plusieurs méthodes sont utilisées pour le diagnostics du CMV dans un contexte de post-greffe. Le tableau II résume les caractéristiques principales de chaque méthode.

Tableau II. Caractéristiques des méthodes de diagnostic du CMV post-greffe.

Méthode	Principe / Utilisation	Description	Avantages	Limites
Sérologie CMV (IgG/IgM)	Détection d'anticorps anti-CMV	Phase pré-greffe	Évalue le risque infectieux selon les statuts D/R	Ne permet pas de détecter une infection active post-greffe
Culture virale classique	Isolement du CMV sur cellules fibroblastiques embryonnaires humaines	Phase post-greffe	Diagnostic direct du virus	Délai long (plusieurs jours)
Culture rapide (immunocytochimie)	Détection d'antigènes précoces viraux par immunocytochimie	Phase post-greffe	Résultats plus rapides (24–48 h)	Moins utilisée aujourd'hui
Antigénémie pp65	Détection de la protéine pp65 dans les neutrophiles	Phase post-greffe	Méthode semi-quantitative	Sensibilité réduite chez les neutropéniques, analyse

				immédiate obligatoire, lecture subjective
PCR en temps réel (qPCR)	Détection et quantification de l'ADN viral CMV dans divers prélèvements	Phase post-greffe	Méthode de référence, résultats rapides, applicable à plusieurs types d'échantillons	Variabilité entre kits, nécessite standardisation (UI), ne reflète pas l'efficacité du traitement
Analyse histopathologique + immunohistochimie	Recherche de cellules infectées (inclusions "œil de hibou") et marquages spécifiques CMV	Atteintes viscérales	Diagnostic des formes invasives	Invasif, nécessite prélèvement tissulaire

À ce jour, la PCR en temps réel ou PCR quantitative (qPCR) constitue la méthode de référence pour la quantification de la charge virale CMV, grâce à sa sensibilité, sa spécificité et sa fiabilité. Elle permet de confirmer le diagnostic d'infection à CMV, et de quantifier l'ADN viral dans différents échantillons biologiques. Si la charge virale sanguine constitue un marqueur prédictif fiable du risque de maladie à CMV, elle ne permet toutefois pas d'évaluer précisément l'efficacité du traitement antiviral curatif.

II. 3. Facteurs de risque d'une infection à CMV chez les transplantés rénaux

Les principaux facteurs de risque influençant la survenue d'une infection à CMV, Après TR, sont le statut sérologique du donneur et du receveur, le type et le niveau d'immunosuppression, l'incompatibilité HLA de classe I ou encore le rejet aigu du greffon (**Hazi et al. 2023**). Ainsi, on observe souvent une incidence élevée de ce type d'infection dans un contexte de :

- Primo-infection chez un receveur séronégatif recevant un greffon d'un donneur séropositif (D+/R-).
- Réactivation virale chez un receveur immunisé (D-/R+ ou D+/R+).
- Surinfection par une autre souche virale (D+/R+).

- Appariement D+/R- : jusqu'à 80–100 % de risque d'infection et 60–80 % de risque de maladie.
- Traitements immunosuppresseurs intensifs, tels que les sérums anti-lymphocytaires (polyclonaux ou monoclonaux), corticothérapie à fortes doses ou usage élevé de mycophénolate mofétil (MMF).

La connaissance des facteurs de risque, est essentielle pour identifier les patients les plus à risque de développer une infection de ce type, et personnaliser les mesures préventives et thérapeutiques. Une approche individualisée et multidisciplinaire est indispensable pour améliorer la prise en charge du CMV chez les transplantés rénaux. Une stratégie combinant prophylaxie et traitement préemptif peut être envisagée :

- Pour les patients à haut risque, une prophylaxie antivirale d'au moins trois mois est recommandée, suivie d'un suivi régulier de la charge virale.
- Pour les patients à risque modéré ou faible, une surveillance virologique systématique permet une détection précoce et un traitement rapide en cas de réactivation virale. **(Hazia et al. 2015).**

II. 4. CMV et transplantation rénale : risques infectieux et stratégies de surveillance

Plusieurs études ont mis en évidence le rôle central du cytomégalovirus (CMV) dans les complications post-transplantation rénale. En effet, l'infection à CMV constitue une cause majeure de morbidité et de rejet du greffon. Selon **(Boutolleau et Burrel, 2016)**, le risque d'infection est particulièrement élevé chez les receveurs séronégatifs recevant un organe d'un donneur séropositif (profil D+/R-), avec des taux d'infection atteignant jusqu'à 80 %.**(Kaminski et al. 2015)** soulignent quant à eux l'intérêt d'une immuno-surveillance couplée à une quantification virologique pour mieux gérer ce risque.

Au niveau local, **(Zina et al. 2024)** et **(Ben Beha et Badjkina ,2023)** ont rapporté une fréquence élevée de réactivation du CMV chez les patients greffés au CHU de Beni Messous et au CHU de Blida, respectivement. Ces études confirment l'utilité de la PCR en temps réel comme outil de référence pour le suivi virologique post-greffe. Par ailleurs, **(Lahfaya ,2020)** a montré une corrélation entre la compatibilité HLA et l'incidence de l'infection à CMV, suggérant l'implication d'un facteur immunogénétique dans la survenue des complications infectieuses.

Ces travaux soulignent la nécessité d'une stratégie de dépistage et de traitement préemptif adaptée aux profils immunovirologiques des patients greffés. Notre étude s'inscrit dans cette lignée, en analysant l'impact du profil sérologique et de l'identité HLA sur la charge virale détectée, et en évaluant l'efficacité de la qPCR dans la surveillance post-transplantation.

Chapitre II

Matériel et méthodes

Nous avons réalisé une étude rétro prospective transversale portant sur l'impact du diagnostic du CMV dans le suivi du greffon. Ce travail a été réalisé au sein du service d'immunologie médicale du Centre Hospitalo-Universitaire Issaad Hassani de Béni Messous De février à juin 2025.

Nous avons travaillé sur une cohorte incluant 81 transplantés rénaux et leurs 81 donneurs respectifs, recrutés entre le 01/12/2021 jusqu'au 13/04/2025 et suivis au service de Néphrologie du Centre Hospitalo-universitaire Issaad Hassani de Béni Messous. Au total, 173 échantillons en était testés dans le cadre de cette étude.

Les données démographiques (Age, sexe...), cliniques, biologiques (charge virale du CMV, nombre de tests effectués), immunologiques (sérologie CMV), immunologiques (Sérologie CMV) et génétique (Typage HLA), ont été collectées à partir des dossiers anonymes des patients recrutés.

➤ **Objectifs de l'étude**

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'apport de la quantification de la charge virale du CMV par PCR en temps réel dans le suivi post-transplantation rénale et la préservation du greffon.

I. Matériel

I. 1. Matériel biologique

L'ADN viral du Cytomégalovirus a été extrait à partir d'échantillons de plasma humain, obtenus à partir de sang total prélevé sur des tubes contenant un anticoagulant de type EDTA.

I. 2. Matériel non biologique

Les réactifs, équipements et consommables utilisés durant notre étude sont résumés dans les annexes.

II. Méthodes

La quantification de l'ADN viral du CMV se déroule en deux étapes : Extraction de l'ADN viral puis son amplification par PCR en temps réel.

II. 1. Extraction de l'ADN viral par

➤ Principe

L'extraction de l'ADN viral a été réalisée en utilisant Le kit QIAamp (Qiagen®) qui repose sur la technologie des colonnes à base de silice. Il permet de purifier l'ADN viral à partir d'échantillons biologiques (plasma, sérum, etc.) par une série d'étapes incluant lyse, liaison, lavage et élution.

Protocole opératoire

➤ Préparation du mélange de lyse :

Pour chaque échantillon, préparer un mélange composé de 550 µL de tampon de lyse AL et de 6,2 µL d'ARN vecteur préalablement reconstitué dans la solution AVE.

➤ Préparation de l'échantillon :

Dans un tube Eppendorf, ajouter successivement : 500 µL du mélange lyse/ARN vecteur, 6 µL de contrôle interne, 75 µL de tampon QP reconstitué, 500 µL de plasma.

➤ Lyse virale :

Homogénéiser par vortex, puis incubé au bain-marie à 56°C pendant 15 minutes.

➤ Précipitation de l'ADN :

Ajouter 600 µL d'éthanol absolu, vortexer brièvement, puis incubé 5 minutes à température ambiante, en vortexant à plusieurs reprises.

➤ Purification sur colonne :

Transférer 500 à 600 µL du lysat dans la colonne de purification, centrifuger à 8000 rpm pendant 1 minute. Répéter l'opération jusqu'à transfert complet de l'échantillon.

➤ **Étapes de lavage :**

Effectuer les lavages suivants en changeant de tube collecteur à chaque étape :

- Ajouter 600 µL de tampon W1, centrifuger à 8000 rpm pendant 1 minute
- Ajouter 750 µL de tampon W2, centrifuger à 14 000 rpm pendant 3 minutes
- Ajouter 750 µL d'éthanol, centrifuger à 14 000 rpm pendant 1 minute

➤ **Séchage de la membrane :**

Placer la colonne ouverte au bain-marie à 56°C pendant 3 minutes, puis centrifuger à vide à 14 000 rpm pendant 1 minute pour éliminer tout résidu.

➤ **Élution de l'ADN :**

Transférer la colonne dans un tube Eppendorf propre, ajouter 60 µL de solution AVE, incubé 5 minutes à température ambiante, puis centrifuger à 14 000 rpm pendant 1 minute.

➤ **Conservation de l'ADN extrait :**

Stocker les ADN à **-20°C** jusqu'à leur utilisation.

"Le protocole opératoire détaillé de l'extraction de l'ADN est présenté en annexe 2."

II. 2. Amplification de l'ADN viral par PCR en temps réel

Principe

Dans notre étude, nous avons utilisé le kit Artus CMV RG PCR (Qiagen®), un système basé sur la PCR en temps réel (Real-Time PCR) permettant la détection et la quantification spécifiques de l'ADN du cytomégalo virus (CMV). Cette technique repose sur l'utilisation de sondes fluorescentes spécifiques, permettant de mesurer, à chaque cycle, l'intensité du signal fluorescent émis par les produits amplifiés. Elle offre l'avantage d'une quantification rapide, sensible et spécifique, tout en éliminant le besoin d'une étape post-amplification telle que l'électrophorèse.

Protocole opératoire

➤ Préparation du mélange réactionnel

Pour chaque réaction, préparer le mélange suivant : 25 µL de CMV RG Master, 5 µL de solution de magnésium (CMV Mg-Sol).

➤ Ajout des échantillons

Dans chaque tube contenant le mélange réactionnel, ajouter : 20 µL d'ADN extrait Ou 20 µL du contrôle positif (CMV QS) Ou 20 µL du contrôle négatif.

➤ Amplification par PCR en temps réel

L'amplification est réalisée à l'aide de l'instrument Rotor-Gene Q MDx® (Qiagen®), selon le programme thermique suivant :

- Dénaturation initiale : 95°C pendant 10 minutes
- 45 cycles comprenant : Dénaturation : 95°C pendant 15 secondes, Hybridation : 65°C pendant 30 secondes, Élongation : 72°C pendant 20 secondes

➤ Détection des signaux fluorescents

Le CMV est détecté dans le canal Cycling Green. Le contrôle interne (IC) est détecté dans le canal Cycling Yellow.

➤ Interprétation et validation des résultats

Les étalons de quantification (CMV QS1 à QS4) doivent s'amplifier correctement. Aucun signal ne doit être détecté dans le puits témoin négatif. La lecture des résultats se fait comme suit :

- Signal CMV détecté (canal green) → Échantillon positif, même en l'absence ou faible signal IC.
- Absence de signal CMV + signal IC présent → Échantillon négatif, PCR valide.
- Aucun signal sur les deux canaux → PCR invalide (à répéter).

➤ Quantification de la charge virale

La charge virale est déterminée par comparaison de la valeur Ct (Cycle threshold) de l'échantillon à la courbe d'étalonnage générée à partir des standards (CMV QS1 à QS4). La formule de conversion en copies/mL est la suivante :

Résultat (copies/mL) = Résultat (copies/ μ L) $\times$ volume d'élution (60 μ L) / volume de l'échantillon (0,5 mL)

"Le protocole opératoire détaillé de l'amplification par PCR en temps réel est présenté en annexe 2."

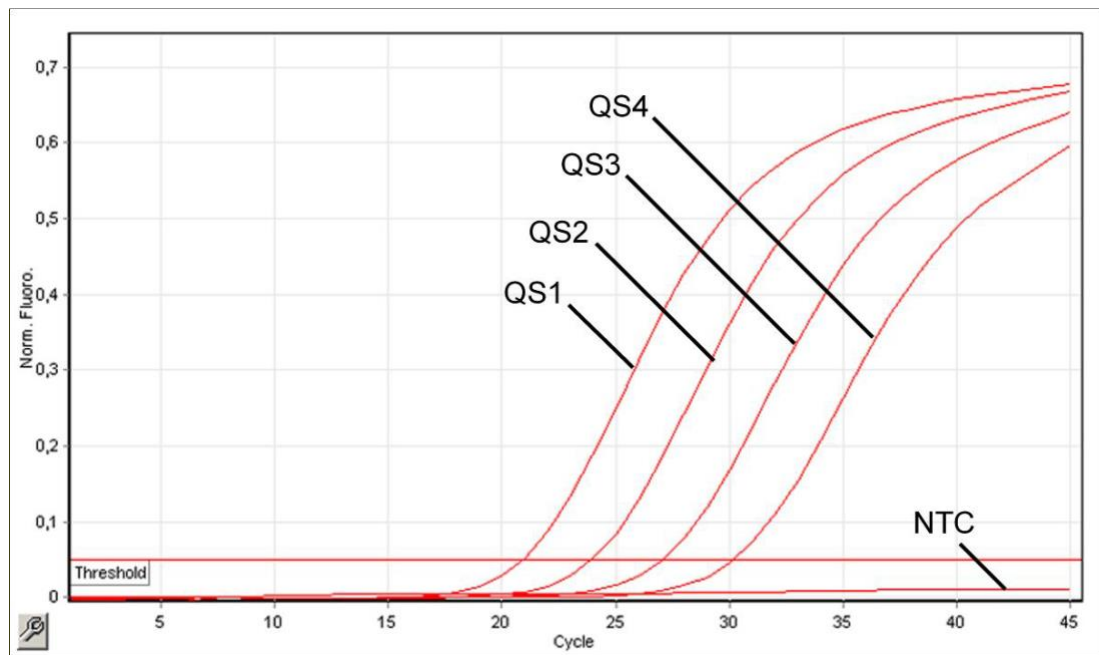


Figure 5. Détection des étalons de quantification (CMV QS 1 à 4) dans le canal Cycling Green. (NTC : No Template Control).

III. Test statistique

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel Microsoft Excel® (version 2016). Les variables qualitatives ont été présentées sous forme d'effectifs absolus et de pourcentages. L'association entre certaines variables (profil sérologique et compatibilité HLA versus présence d'une charge virale détectable) a été évaluée à l'aide du test du Chi² de Pearson. Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

Chapitre III

Résultats et discussions

I. Caractéristiques démographiques

I. 1. Répartition des receveurs selon le sexe

Dans notre étude, près des deux tiers des receveurs étaient de sexe masculin avec un pourcentage de **64%**; (**n= 52**), contre **36%**; (**n= 29**), pour les femmes. Le sex-ratio H/F était de 1,7 (**Figure 6**).

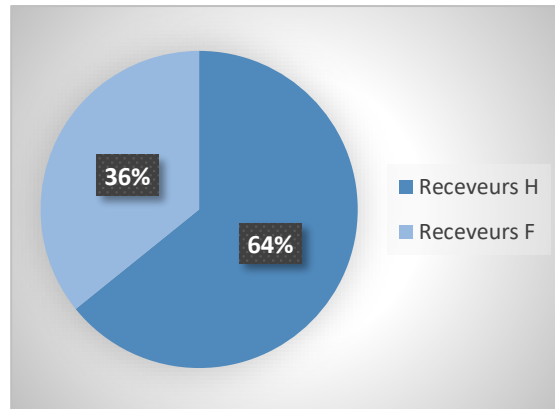


Figure 6.Répartition des receveurs selon le sexe.

I. 2. Répartition des donneurs selon le sexe

Le nombre de donneurs de sexe féminin étaient plus élevé en comparaison avec celui des hommes, à savoir **57%** ; (**n= 46**), de femmes contre **43%**; (**n= 35**), d'hommes et un sex-ratio H/F de 0, 75 (**Figure 7**).

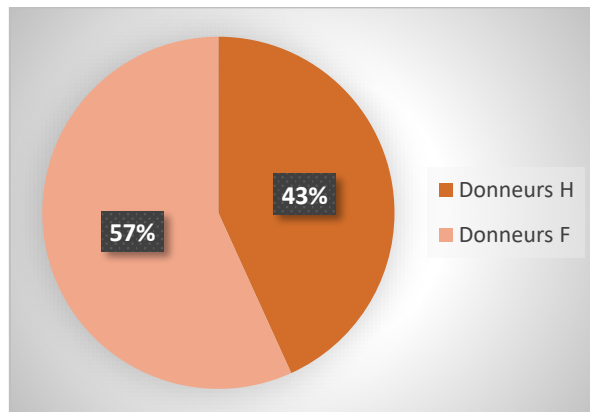


Figure 7.Répartition des donneurs selon le sexe

I. 3. Répartition des receveurs et des donneurs selon l'âge

81 couples Donneur/Receveur ont été inclus dans notre étude. L'âge moyen des donneurs était de **33,98 ± 10,52** ans. Celui des receveurs était de **45,62± 11,71** ans. L'âge des receveurs et des donneurs se situait en majorité dans la classe de **16 à 55** ans (**Figure 8**).

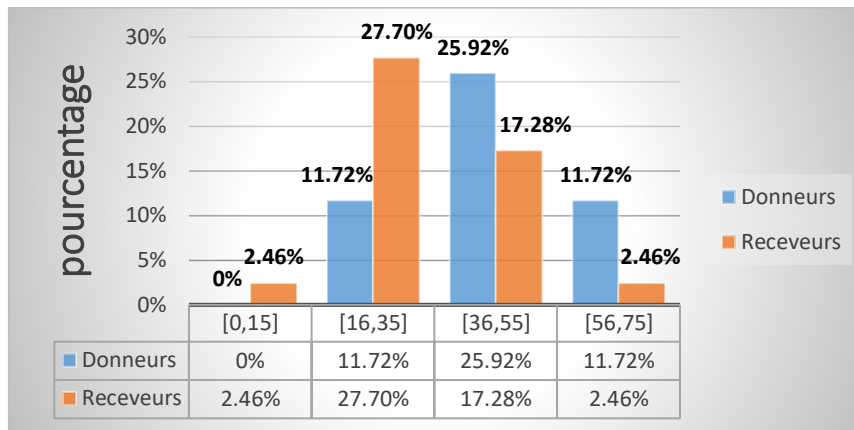


Figure 8.Répartition des donneurs et des receveurs selon les tranches d'âge.

I. 4. Lien de parenté

La répartition des receveurs de greffe rénale en fonction du lien de parenté avec leur donneur indique que les frères **13,58 % ; (n= 22)**, les mères **9,25 % ; (n= 15)**, et les fils **8,64 % ; (n=14)**, constituent les donneurs les plus fréquents dans notre étude (**Figure 9**). Il est à noter que l'ensemble des donneurs étaient vivants (**100 %**).

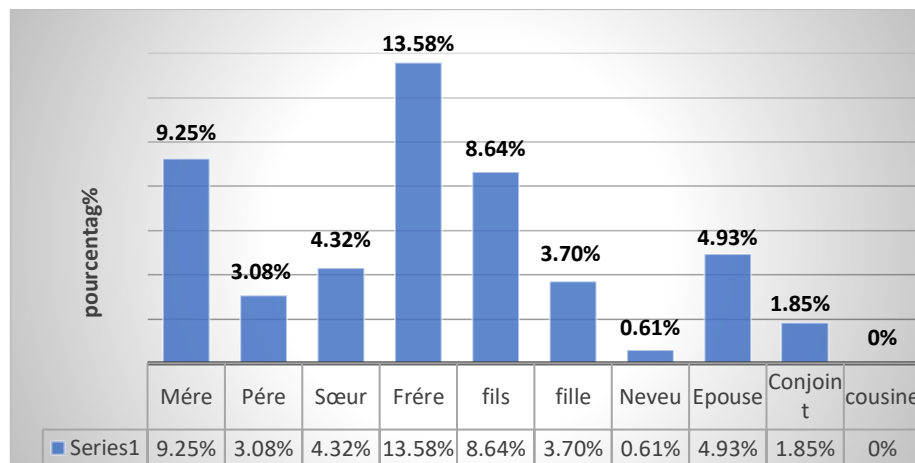


Figure 9.Répartition des donneurs selon leur lien de parenté avec le receveur.

I. 5. Année de la transplantation rénale

Près de la moitié des patients **46,91 % ; (n= 38)** inclus dans l'étude ont été transplantés durant l'année 2022. (**Figure 10**).

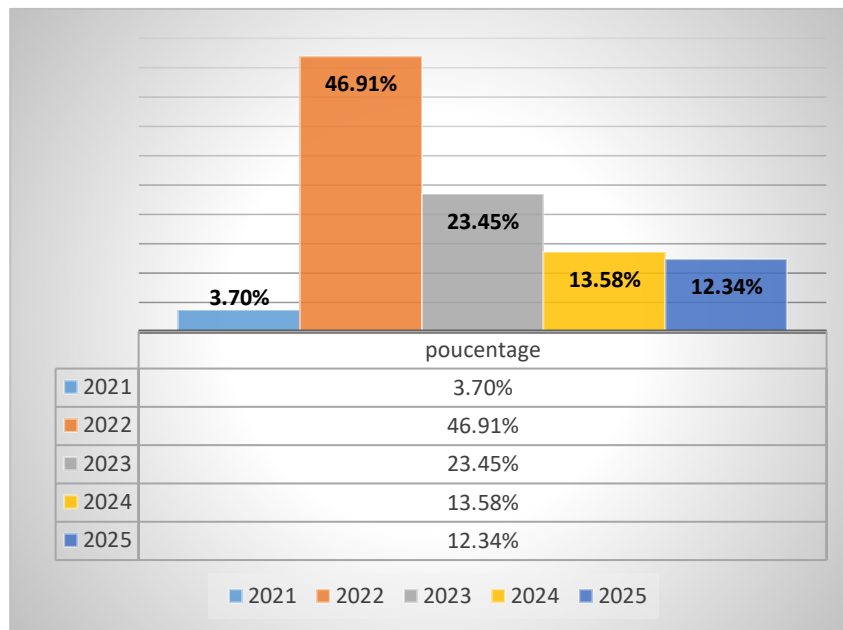


Figure 10. Distribution de la population selon l'année de la transplantation rénale.

II. Profils cliniques et génétique de la population étudiée

II. 1. Etiologie de l'insuffisance rénale

La répartition de l'étiologie de l'insuffisance rénale chez les patients de notre étude est représentée dans la **Figure 11**. Dans la majorité des cas **67,73 % ; (n= 55)**, l'étiologie était indéterminée, probablement en raison d'un manque d'explorations ou d'un diagnostic tardif. La cause identifiée la plus fréquente est le Reflux vésico-urétéral **11,09 % ; (n= 9)**, suivi du lupus érythémateux systémique et le méga uretère congénital **3,69 % ; (n= 3)**, et d'autres étiologies moins fréquentes comme la polykystose rénale, la néphropathie à IgA ou encore l'hypertension artérielle.

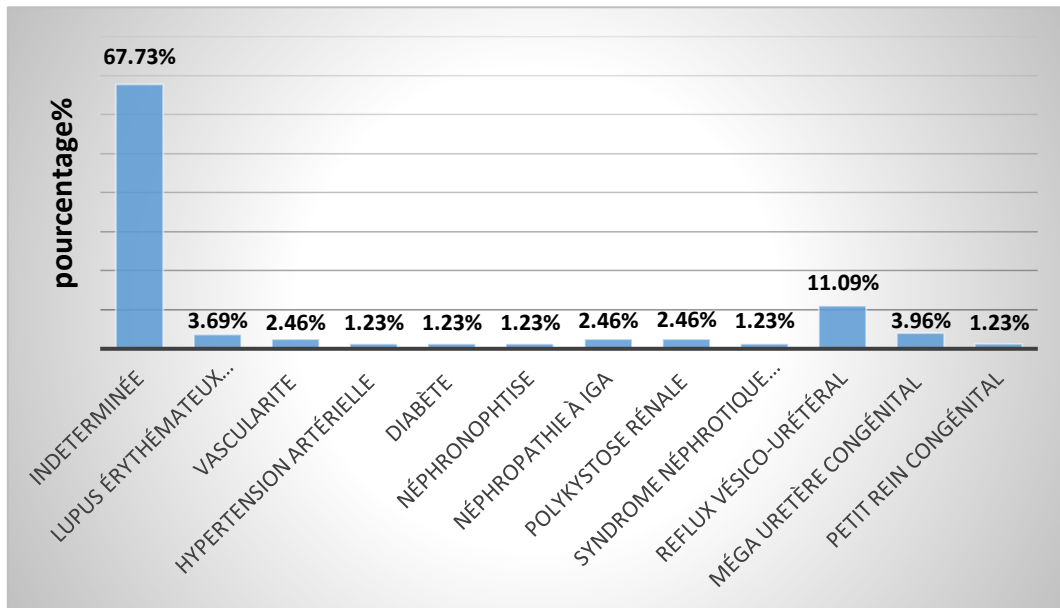


Figure 11.Étiologies de l'insuffisance rénale dans notre cohorte

II. 2. Identité HLA

Plus de la moitié des couples présentaient une identité HLA allant de 1 à 50%. Seuls 5,21% ;(n= 4), des couples étaient HLA identiques (**Figure 12**). Pour tous les couples inclus dans l'étude, un typage HLA a été réalisé au minimum sur les loci **A, B, DRB1 et DQB1**.

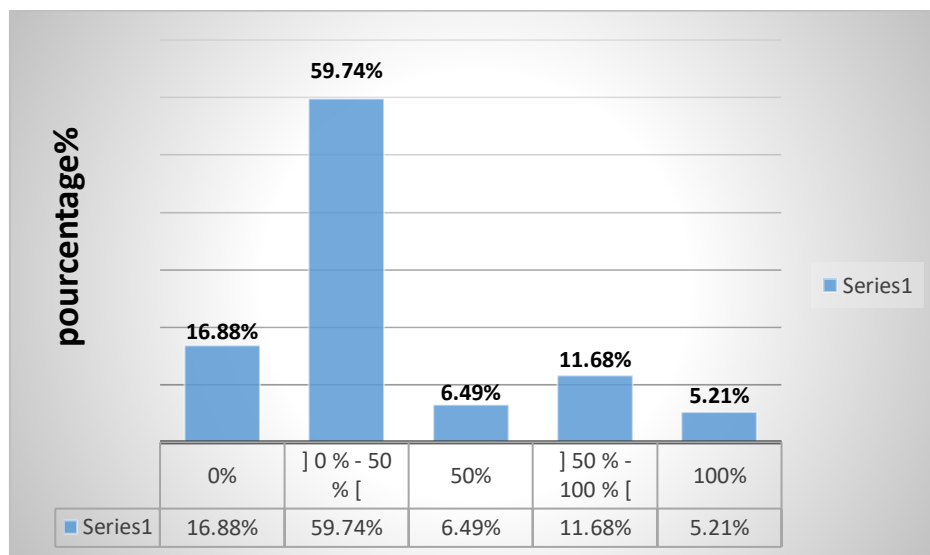


Figure 12.identité HLA dans notre population.

III. Infection à CMV et suivi du greffon

Le Cytomégalo virus constitue une préoccupation majeure en transplantation rénale en raison de ses effets directs et indirects sur le greffon et le patient. Son risque de survenue dépend essentiellement du statut sérologique du donneur et du receveur. L'analyse de ces profils dans

notre cohorte permet d'évaluer l'exposition au CMV et d'anticiper les mesures de prise en charge post-greffe.

III. 1. Statut sérologique CMV des donneurs et des receveurs

Le statut sérologique CMV a été évalué avant la transplantation chez les donneurs (D) et les receveurs (R). Le profil le plus fréquent était R+/D+ **86 % ; (n= 67)**, suivi du profil R-/D+ **12 % ; (n= 9)**, tandis que les profils R+/D- et R-/D- étaient rares, chacun représentant **1 %** des cas. (**Figure 13**).

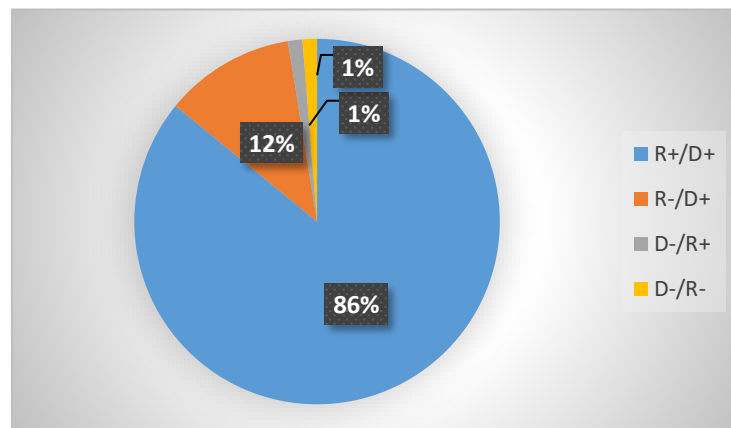


Figure 13. Statut sérologique du Cytomégalovirus chez les donneurs et les receveurs.

III. 2. Quantification de la charge virale du CMV par qPCR chez les receveurs après transplantation

Dans notre étude, **39** patients transplantés sur **81** soit **48,53 %** ont présenté au moins une charge virale détectable par qPCR (**Figure 14**). Parmi ces patients positifs, **11** soit **27,84 %** avaient une charge virale $\geq 3 \log_{10}$ copies/mL, ce qui représente le seuil pour initier un traitement antiviral préemptif.

Concernant la répartition des profils sérologiques parmi les patients ayant une charge virale détectable : **39,24% ;(n=31)**, étaient de profil R+/D+, **6,32% ;(n=5)**, de profil R-/D+ **1,26 % ;(n=1)**, de profil R+/D- et **1,26 % ;(n=1)**, de profil R-/D-. Ces données confirment la prédominance du profil R+/D+, connu pour son risque élevé de réactivation du CMV. Ce suivi virologique a permis d'identifier précocement les patients à risque, afin d'ajuster la prise en charge. Pour les échantillons négatifs, la validité du test était confirmée par le contrôle interne (IC), avec une valeur attendue de **Ct = 27 ± 3 (seuil : 0,03)**. Cette valeur garantit la fiabilité du résultat en l'absence de détection du CMV.

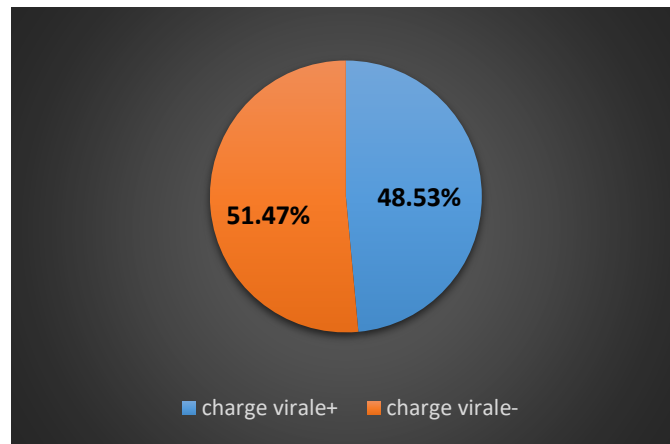


Figure 14. Répartition des receveurs selon la charge virale du CMV

III. 3. Délai entre la transplantation et la première charge virale positive

Le délai médian entre la transplantation et la détection de la première charge virale positive était de 4 mois (**IQR : 1 – 30,25 mois**). Les infections à CMV surviennent généralement au cours des 100 premiers jours post-greffe en dehors de toute instauration de traitement antiviral préventif (Azevedo et al., 2013 ; Ktton, 2013 ; Lumbreras et al., 2014 ; Sousa et al., 2014).

III. 4. Symptômes cliniques de l'infection à CMV chez les receveurs

Dans notre étude, les manifestations cliniques associées à l'infection à CMV survenues après la transplantation rénale, comprenaient une altération de la fonction rénale dans **82,97 % ; (n=39)** des cas et une protéinurie dans **40,42 % ; (n=19)** des cas (**Figure 15**).

Ces anomalies biologiques post-greffe sont souvent liées à une atteinte du greffon induite par la réplication du CMV, notamment par des lésions tubulo-interstitielles. Leur détection précoce permet d'orienter le diagnostic et d'initier une prise en charge adaptée.

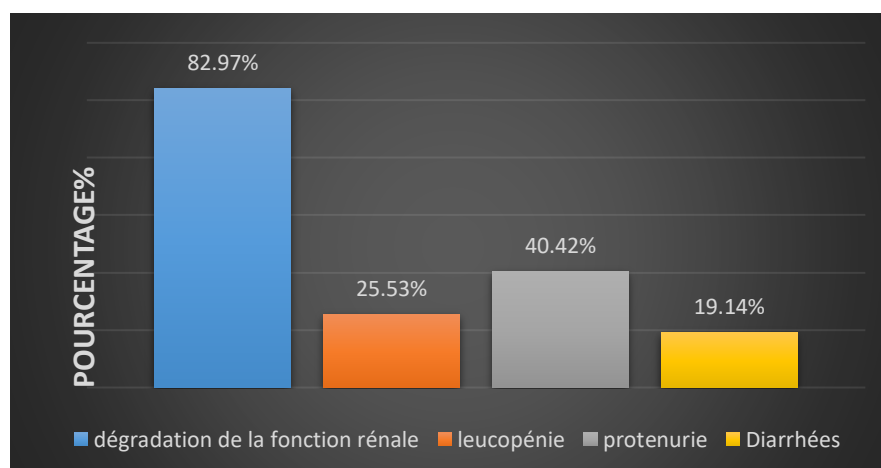


Figure 15.Répartition des symptômes cliniques de l'infection à CMV.

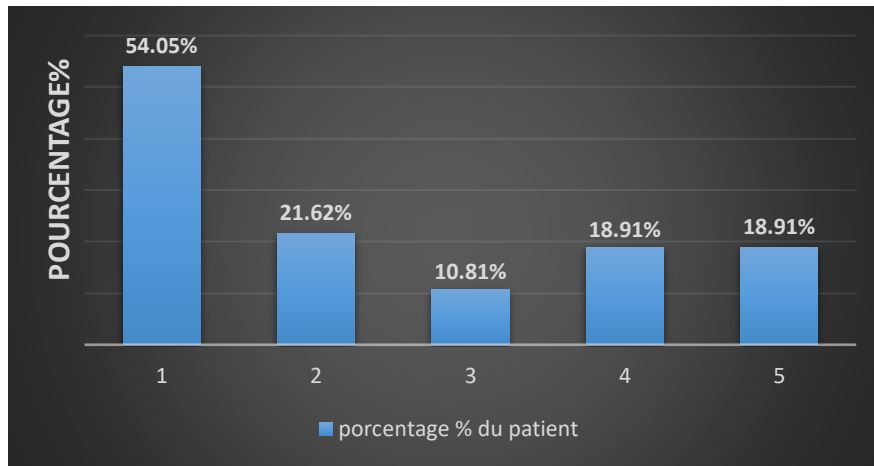


Figure 16.Répartition selon le nombre de tests par patient.

IV. Facteurs de risque liés à l'infection à CMV

IV. 1 Sérologie CMV

Dans notre étude, nous avons comparé la répartition des profils sérologique CMV entre les patients avec et sans charge virale détectable, le profil sérologique R+/D+ était le plus fréquent aussi bien chez les patients avec charge virale détectable **39,24 % ;(n=31)**, que chez ceux sans charge virale **46,83 % ;(n=37)**. Le test du Chi² n'a pas montré de lien significatif entre le profil sérologique et la survenue de l'infection (**p = 0,47**). Cependant ce profil ne constitue pas à lui seul un facteur prédictif de la réactivation du CMV. L'évaluation du risque doit également prendre en compte le contexte immunologique et les traitements reçus.

Tableau III. Répartition des profils sérologiques CMV selon la charge virale chez les patients transplantés rénaux.

DOUNNEUR/RECEVEUR	R+D+	R+D-	R-D+	R-D-
Charge virale +	39,24% N=31	1.26% N=01	6.32% N=05	1.26% N=01
Charge virale -	46.83% N=37	0% N=0	5.06% N=04	0% N=0

IV.2 Identité HLA

Parmi les patients ayant une charge virale positive, la majorité **44.44% ; (n= 36)**, avaient une compatibilité HLA de **50 %**. Une compatibilité HLA de 50 %. Aucun cas positif n'a été observé dans l'intervalle strictement compris entre 0 % et 50 % (excluant 50 %), ce qui suggère une possible association entre cette compatibilité précise et le risque de réactivation.

Un test du χ^2 a été réalisé pour évaluer la relation entre le pourcentage de compatibilité HLA et la survenue d'une infection à CMV.

Les résultats ont montré une association statistiquement significative (**p = 0,021**), suggérant que le niveau de compatibilité HLA pourrait avoir une influence sur le risque de réactivation virale.

Tableau IV.Répartition des patients selon l'identité HLA et la charge virale du CMV.

Identité HLA	0%	] 0-50% [	50%	] 50-100% [	100%
Charge virale +	04% N=2	0% N=0	72% N=36	20% N=10	04% N=2
Charge virale -	13.6% N=3	13.6% N=3	40.9% N=9	27.3% N=6	4.5% N=1

Discussion

L'infection à (CMV) constitue l'une des principales complications post-greffe rénale, en raison de son impact potentiel sur la survie du greffon et du receveur. Notre étude, réalisée au CHU Issaad Hassani de Beni Messous, visait à caractériser les profils sérologiques des couples donneur/receveur et à souligner l'importance d'une surveillance virologique ciblée après la transplantation. Les résultats obtenus sont discutés ci-dessous et confrontés aux données d'autres travaux menés en Algérie.

Notre cohorte révèle une prédominance masculine parmi les receveurs (64 %), alors que les donneurs étaient principalement des femmes (57 %). Nos résultats sont en accord avec ceux avancés par **(Ben Beha et Badjkina ,2023)**, dans une étude menée au CHU de Blida, où les femmes représentaient également la majorité des donneurs. Cela reflète la place importante des femmes dans le don familial, souvent motivé par des liens de solidarité. La moyenne d'âge des

receveurs était de 33,98 ans, ce qui traduit une population jeune, un résultat similaire à celui de **(Zina et al. 2024)**. Le jeune âge est favorable à une meilleure récupération post-transplantation **(Zina et al. 2024)**.

Tous les donneurs de notre série étaient vivants et apparentés, avec une prédominance des dons intrafamiliaux. Bien que les femmes représentent 57 % de l'ensemble des donneurs, la catégorie la plus fréquente en termes de lien de parenté spécifique était celle des frères (13,58 %), suivie par les mères (9,25 %). Ceci a également été rapporté par **(Lahfaya ,2020)**. Cela permet une meilleure planification de la greffe. Toutefois, cela nécessite une évaluation immunologique rigoureuse, car dans un contexte apparenté, le risque de réactivation du CMV demeure, notamment en présence de profils sérologiques incompatibles **(Zina et al. 2024)**.

Une étiologie non déterminée a été relevée dans 67,73 % des cas. Ce taux élevé, également constaté par **(Ben Beha et Badjkina ,2023)**, met en évidence un déficit de diagnostic néphrologique précoce, lié à une prise en charge tardive et à un accès limité aux examens spécialisés. Cela compromet la prévention des récives et la personnalisation des traitements post-greffe.

Près de la moitié des transplantations ont été effectuées en 2022, ce qui traduit une reprise notable de l'activité de greffe après la période de ralentissement imposée par la pandémie de COVID-19, en cohérence avec les données de **(Zina et al. 2024)**. Cette évolution pourrait s'expliquer par une meilleure organisation hospitalière et une disponibilité accrue de donneurs vivants. Nous n'avons toutefois pas pris en compte le délai entre l'insuffisance rénale terminale et la greffe, un paramètre pourtant déterminant dans le devenir du greffon.

Seuls 5,21 % des couples présentaient une identité HLA parfaite, la majorité ayant une compatibilité partielle (1 à 50 %). Ces résultats sont en accord avec ceux de **(Lahfaya ,2020)**, qui souligne que les avancées thérapeutiques en termes d'immunosuppression permettent de surmonter une compatibilité imparfaite. Cependant, un faible taux de compatibilité n'élimine pas le risque de complications infectieuses post-greffe, notamment à CMV.

Le profil R+/D+ était prédominant (86 %), suivi par R-/D+ (12 %). Ces profils sont à haut risque de réactivation virale. Nos résultats sont similaires à ceux de Zina et al. (2024) au CHU de Beni Messous, mais également cohérents avec les données de **(Ben Beha et Badjkina ,2023)** à Blida, où les infections virales, notamment à CMV, représentaient une proportion importante des complications post-greffe. En transplantation d'organe solide, les statuts sérologiques donneur/receveur (D/R) avant la greffe constituent le facteur de risque d'infection à CMV le

plus déterminant, surtout dans les situations de primo-infection, essentiellement chez les patients D+/R-. Le risque reste cependant élevé dans les profils R+/D+, en raison de la réactivation virale. Il y a aussi d'autres facteurs, tels que l'utilisation d'immunosuppresseurs puissants (sérum anti-lymphocytaire, alemtuzumab), l'incompatibilité HLA ou encore les épisodes de rejet aigu du greffon (**Boutolleau et Burrel, 2016**).

L'infection à CMV post-greffe peut avoir plusieurs origines : une primo-infection chez un receveur séronégatif recevant un greffon d'un donneur séropositif (D+/R-), une réactivation d'une infection latente chez un receveur déjà séropositif (R+), ou une réinfection par une souche virale différente transmise par un donneur séropositif (D+) à un receveur séropositif (R+) (**Boutolleau et Burrel, 2016**).

Les signes cliniques les plus fréquents étaient une altération de la fonction rénale (82,97 %) et une protéinurie (40,42 %), des manifestations classiques d'infection à CMV. Ces résultats corroborent ceux de (**Bahout ,2013**), qui insiste sur l'importance d'une surveillance immunologique étroite pour détecter précocement les complications.

Une charge virale détectable a été observée chez 48,53 % des patients, dont 27,84 % avaient un taux $\geq 3 \log_{10}$, le seuil pour déclencher une thérapie préemptive. Ces données rejoignent celles de (**Lahfaya ,2018**), qui a également rapporté une proportion significative de patients atteints de virémie cliniquement pertinente après greffe rénale. La détection a été réalisée par PCR quantitative (qPCR), considérée comme la méthode de référence en surveillance post-transplantation pour sa sensibilité élevée, sa rapidité et sa capacité à quantifier précisément la charge virale. Selon (**Storch et al. 1994**), la qPCR permet une détection plus précoce de 4 jours en moyenne par rapport à l'antigénémie pp65. De plus, (**Marchetti et al. 2011**) ont démontré une sensibilité de 94 % pour la qPCR contre 27 % pour l'antigénémie.

Ces résultats sont également soutenus par les lignes directrices récentes de l'IDSA (2024), qui reconnaissent la qPCR comme standard de soins pour la gestion du CMV chez les transplantés. Cela met en évidence l'intérêt d'un dépistage régulier par qPCR afin de prévenir les complications liées à la réactivation virale chez les patients greffés.

Le profil sérologique R+/D+ avec charge virale détectable représentait 39,24 % des cas dans notre série. Cette prédominance s'explique par la forte séroprévalence du CMV dans la population générale en Algérie, comme le montrent les travaux de (**Benzohra et Zebiche ,2017**). Ce profil est également considéré comme à haut risque de réactivation, notamment chez les receveurs immunodéprimés, ce qui justifie un suivi renforcé dans ce sous-groupe.

La distribution de la charge virale en fonction du pourcentage d'identité HLA ne montre pas de tendance nette. Les patients ayant une compatibilité de 50 % étaient les plus nombreux à présenter une charge virale positive. Toutefois, aucune relation évidente ne peut être établie sur la base de nos données descriptives seules, ce qui suggère l'implication possible d'autres facteurs dans la réactivation du CMV.

La première détection de charge virale est survenue en moyenne quatre mois après la greffe, ce qui indique une survenue précoce des infections. Ce résultat est similaire à ceux de **(Zina et al. 2024)**, qui rapportent une majorité de cas dans les six mois suivant la transplantation.

Nos résultats corroborent les données des travaux de **(Zina et al. 2024)** et de **(Ben Beha et Badjkina ,2023)**, qui soulignent le rôle central du CMV dans les complications post-greffe. L'absence de protocoles nationaux de dépistage virologique constitue un défi majeur. L'intégration systématique de la PCR quantitative pour la charge virale, couplée à des stratégies de prophylaxie personnalisée (notamment pour les profils R+/D+ et R-/D+), est fortement recommandée dans notre contexte.

Chez les receveurs de greffe d'organe solide, le diagnostic d'une infection à cytomégalovirus (CMV) nécessite une prise en charge thérapeutique rapide afin de limiter les complications, notamment le rejet du greffon et les infections opportunistes. Le traitement repose essentiellement sur des antiviraux spécifiques.

Le ganciclovir intraveineux (GCV IV) est considéré comme le traitement de référence dans les formes symptomatiques ou sévères. Il est administré à la dose de 5 mg/kg toutes les 12 heures, généralement pour une durée initiale de deux à quatre semaines, ajustée selon la fonction rénale du patient **(Emery, 2020)**. Un suivi virologique régulier est indispensable afin d'adapter la durée de traitement en fonction de la réponse thérapeutique.

Le valganciclovir (VGCV), un promédicament du ganciclovir administré par voie orale à la posologie de 900 mg deux fois par jour, constitue une alternative efficace, en particulier chez les patients stables ou présentant une infection modérée. Une étude multicentrique portant sur 321 transplantés (principalement rénaux) a démontré que le VGCV est aussi efficace que le GCV IV pour atteindre une clairance de la virémie au 21^e jour **(Limaye et al. 2015)**. Toutefois, une virémie résiduelle chez certains patients à ce stade justifie un allongement du traitement jusqu'à obtention d'une charge virale indétectable.

Il est donc recommandé de poursuivre le traitement antiviral jusqu'à ce que la charge virale devienne indétectable, afin de réduire le risque de rechute ou de progression de la maladie **(Razonable et Humar, 2013)**. En cas d'échec du traitement initial ou de suspicion de résistance, des antiviraux de seconde ligne comme le foscarnet ou le cidofovir peuvent être utilisés, bien que leur toxicité, notamment rénale, limite leur emploi **(Chemaly et al. 2019)**.

Ainsi, la prise en charge du CMV post-transplantation doit être individualisée, en tenant compte de la gravité de l'infection, de la tolérance aux médicaments, et de la cinétique de la virémie sous traitement.

Conclusion

La transplantation rénale représente une avancée majeure dans la prise en charge de l'insuffisance rénale terminale. Toutefois, elle expose les patients à un risque accru d'infections opportunistes, parmi lesquelles l'infection par le cytomégalovirus (CMV) reste l'une des plus fréquentes et des plus redoutées. Dans ce contexte, la surveillance virologique, en particulier la quantification de la charge virale du CMV, s'avère être un outil diagnostique et pronostique essentiel.

Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude, menée au sein du service d'immunologiemédicale du CHU Issaad Hassani de Beni Messous, confirment l'importance de cette approche. La détection précoce d'une réplication virale permet une intervention thérapeutique rapide, réduisant ainsi le risque de complications graves et améliorant la prise en charge globale du patient transplanté.

Ce travail nous a permis de mieux comprendre le rôle crucial du suivi virologique post transplantation, et met en évidence la nécessité d'une collaboration étroite entre cliniciens, biologistes et immunologistes afin d'optimiser le suivi et la protection des patients greffés.

En somme, la quantification régulière de la charge virale du CMV devrait faire partie intégrante du protocole de suivi des patients transplantés, pour garantir une meilleure efficacité thérapeutique et une longévité accrue du greffon.

Références Bibliographiques

- Anglicheau et al. (2015). Establishing biomarkers in transplant medicine: A critical review of current approaches. *Transplantation*, 99(12), 2481–2492.
<https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000911>
- Anglicheauab et al. (2019). Transplantation rénale : réalisation et suivi précoce. *Néphrologie & Thérapeutique*, 15(6), 469–484.
<https://doi.org/10.1016/j.nephro.2019.09.001>
- Ben Baha, F. & Bedjekina, A. S. (2021). Les complications infectieuses après la transplantation rénale. Mémoire de fin d'études, Université Saad Dahleb – Blida. <https://theses-algerie.com/9009875340658618>
- Bahout, S. (2013). Apport de l'immunologie en transplantation rénale. Mémoire de Master, Université Saad Dahleb – Blida.
<https://di.univ-blida.dz/jspui/handle/123456789/2693>
- Benzohra et al. (2017). Exploration immunologique des patients transplantés rénaux au CHU Blida. Mémoire de Master, Université Saad Dahleb – Blida.
<https://di.univ-blida.dz/jspui/handle/123456789/15597>
- Barande, S. (2014). Prévention et traitement du cytomégalovirus après transplantation. <https://acrobat.adobe.com/id/urn:aaid:sc:EU:5c38a7f0-8e51-4e22-8d6d-086a5ffcdccdu>
- Boutolleau, D., & Burrel, S. (2016). Infections à cytomégalovirus en transplantation : manifestations cliniques, diagnostic virologique et prise en charge thérapeutique. *Journal des Anti-infectieux*, 18(2), 70–78.
<https://doi.org/10.1016/j.antinf.2016.03.001>
- Chemaly et al. (2019). Management of resistant and refractory cytomegalovirus infection in transplant recipients. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(4), e00082-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00082-18>
- Cristescu, C. (2022). Human cytomegalovirus infection and the risk of cardiovascular disease. <https://tel.archives-ouvertes.fr/-04416310>
- Drissi Bourhanbour, A. (2021, 12 octobre). Transplantation rénale entre époux et immunisation anti-HLA en pré-greffe : à propos de deux observations. *Pan African Medical Journal*, 40, Article 92.
<https://doi.org/10.11604/pamj.2021.40.92.18744>
- Emery, V. C. (2020). Treatment strategies for CMV in solid organ transplantation. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 33(4), 309–315.

- Fishman, J. A. (2007). Infection in solid-organ transplant recipients. The New England Journal of Medicine, 357(25), 2601–2614.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra064928>
- Frimat, L., Kessler, M. (2009). Prise en charge des patients insuffisants rénaux chroniques : du dépistage au traitement de suppléance. La Revue du Praticien, 59(9), 1220–1225.
- Gargah et al. (2010). Les infections à cytomégalo­virus après la transplantation rénale : Expérience d’un centre de néphrologie pédiatrique. Revue Tunisienne d’Infectiologie, 4(1), 5–10.
https://infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/revues/12010/infections_cytomega.pdf
- Georgescu et al. (2007). Anticorps anti-HLA et rejet en transplantation rénale : Impact des nouvelles techniques de détection. Revue Médicale Suisse, 3(108), 2363–2367.
- Gondran-Tellier et al. (2020). Progrès en Urologie, 30(15), 976–981.
- Hazia et al. (2015). Prévalence du cytomégalo­virus chez les patients immunodéprimés. Revue Algérienne de Médecine, 28(3), 145–150.
- HadjSafi et al. (2017). Suivi précoce et tardif du transplanté rénal. Batna Journal of Medical Sciences, 4(1), 66–72.
<https://doi.org/10.48087/bjmstfa.2017.4114>
- Hazi et al. (2023). Intérêt de la quantification de la charge virale du cytomégalo­virus en transplantation rénale.
<https://www.asjp.cerist.dz/en/PresentationRevue/436>
- Infectious Diseases Society of America. (2024). Cytomegalovirus in solid organ transplantation: Clinical practice guidelines. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/cytomegalovirus>
- Kara HadjSafi et al. (2017). Surveillance de l’infection à cytomégalo­virus chez les transplantés rénaux en Algérie. Bulletin de Virologie Clinique, 12(2), 101–108.
<https://doi.org/10.1234/bvc.2017.02101>
- Kaminski et al. (2015). Intérêt de l’immuno-surveillance dans l’infection à cytomégalo­virus en transplantation rénale : Mise au point et perspectives. Néphrologie & Thérapeutique, 11(6), 465–473.
<https://doi.org/10.1016/j.nephro.2015.03.005>

- Lahfaya, S. (2018). Évaluation de la transplantation rénale à partir de donneurs vivants HLA différents. Thèse de Doctorat, Université Saad Dahleb – Blida.
<https://di.univ-blida.dz/jspui/handle/123456789/8991>

- Limaye et al. (2015). Comparison of oral valganciclovir with intravenous ganciclovir for treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *American Journal of Transplantation*, 15(3), 804–812.

- Marchetti et al. (2011). Comparison of pp65 antigenemia and quantitative real-time PCR in the diagnosis of cytomegalovirus infection. *New Microbiol*, 34(2), 157–162. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21944594>

- Razonable, R. R., & Humar, A. (2013). Cytomegalovirus in solid organ transplantation. *American Journal of Transplantation*, 13(s4), 93–106.

- Saint-Aubert, N., & Billault, C. (2020). Chapitre 13 – Transplantation d’organes. In *Référentiel du Collège d’Urologie* (5e éd.). Urofrance.
<https://www.urofrance.org/lafu-academie/formation-du-college/referentiel-du-college-durologie-5eme-edition/chapitre-13-transplantation-dorganes>

- Schmitt, J., & Gothot, A. (2022). Évolution des méthodes d’histocompatibilité dans la greffe d’organe : Le point en 2022. *Revue Médicale de Liège*, 77(10), 586–592.

- Snanoudj, R., & Legendre, C. (2016). Nouveaux aspects de la compatibilité HLA en transplantation. *Néphrologie & Thérapeutique*, 12(Suppl 1), 125–130.
<https://doi.org/10.1016/j.nephro.2016.01.006>

- Storch et al. (1994). Comparison of cytomegalovirus detection in blood by polymerase chain reaction and by antigenemia assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4), 997–1003.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC263157>

- Thurlow et al. (2021). Global epidemiology of end-stage kidney disease and disparities in kidney replacement therapy. *American Journal of Nephrology*.
<https://doi.org/10.1159/000514550>

- Vuotto, F. (2018). Infection complexe à CMV en transplantation [Diaporama]. Service de Maladies Infectieuses – CHU Lille.
<https://gilar.org/UserFiles/File/diaporamas/2019/infection-complexe-a-cmv-en-transplantation-desc-2019-fv>

- Van Drop et al. (1993) Cytomegalovirus directly enhances MHC class1 and intracellular adhesion molecule-1 expression on cultured proximal tubular epithelial cells. Transplantation 1993; 55: 1367-71.

- Zina et al. (2024). Surveillance de la charge virale du cytomégalo­virus après transplantation rénale : expérience d'un centre algérien. Néphrologie & Thérapeutique, 20(1), 45–52.

<https://doi.org/10.xxxx/xxxxxx>

ANNEXES

Annexe N° 01 :

Matériel non biologique utilisé

L'étude a nécessité l'utilisation de divers réactifs, équipements et consommables, répartis selon deux étapes :

1. Extraction de l'ADN viral:

Utilisation du Kit QIAamp DSP Virus®, contenant des tampons de lyse et d'élution, tampons de lavage, ARN vecteur, colonnes de purification, contrôle interne. Avec du matériel comme pipettes, vortex, microcentrifugeuse et bain-marie.

2. Amplification de l'ADN viral :

Utilisation du Kit Artus CMV RG PCR®, comprenant :

1. CMV RG Master : Contient les amorces spécifiques de l'ADN du CMV et du contrôle interne, l'enzyme d'amplification ADN polymérase et DNTP.
2. Étalons de quantification (CMV QS 1-4).
3. Contrôle négatif (eau PCR).

Annexe N° 02 :

1. Protocole opératoire (Extraction de l'ADN viral)

➤ Préparation du mélange de lyse :

Pour chaque échantillon, préparer un mélange composé de 550 µL de tampon de lyse AL et de 6,2 µL d'ARN vecteur préalablement reconstitué dans la solution AVE.

➤ Préparation de l'échantillon :

Dans un tube Eppendorf, ajouter successivement : 500 µL du mélange lyse/ARN vecteur, 6 µL de contrôle interne, 75 µL de tampon QP reconstitué, 500 µL de plasma.

➤ Lyse virale :

Homogénéiser par vortex, puis incubé au bain-marie à 56°C pendant 15 minutes.

➤ Précipitation de l'ADN :

Ajouter 600 µL d'éthanol absolu, vortexer brièvement, puis incubé 5 minutes à température ambiante, en vortexant à plusieurs reprises.

➤ **Purification sur colonne :**

Transférer 500 à 600 µL du lysat dans la colonne de purification, centrifuger à 8000 rpm pendant 1 minute. Répéter l'opération jusqu'à transfert complet de l'échantillon.

➤ **Étapes de lavage :**

Effectuer les lavages suivants en changeant de tube collecteur à chaque étape :

- Ajouter 600 µL de tampon W1, centrifuger à 8000 rpm pendant 1 minute
- Ajouter 750 µL de tampon W2, centrifuger à 14 000 rpm pendant 3 minutes
- Ajouter 750 µL d'éthanol, centrifuger à 14 000 rpm pendant 1 minute

➤ **Séchage de la membrane :**

Placer la colonne ouverte au bain-marie à 56°C pendant 3 minutes, puis centrifuger à vide à 14 000 rpm pendant 1 minute pour éliminer tout résidu.

➤ **Élution de l'ADN :**

Transférer la colonne dans un tube Eppendorf propre, ajouter 60 µL de solution AVE, incuber 5 minutes à température ambiante, puis centrifuger à 14 000 rpm pendant 1 minute.

➤ **Conservation de l'ADN extrait :**

Stocker les ADNs à -20°C jusqu'à leur utilisation.

2. Protocole opératoire (Amplification de l'ADN viral par PCR en temps réel)

➤ **Préparation du mélange réactionnel**

Pour chaque réaction, préparer le mélange suivant : 25 µL de CMV RG Master, 5 µL de solution de magnésium (CMV Mg-Sol).

➤ **Ajout des échantillons**

Dans chaque tube contenant le mélange réactionnel, ajouter : 20 µL d'ADN extrait Ou 20 µL du contrôle positif (CMV QS) Ou 20 µL du contrôle négatif.

➤ **Amplification par PCR en temps réel**

L'amplification est réalisée à l'aide de l'instrument Rotor-Gene Q MDx® (Qiagen®), selon le programme thermique suivant :

- Dénaturation initiale : 95°C pendant 10 minutes
- 45 cycles comprenant : Dénaturation : 95°C pendant 15 secondes, Hybridation : 65°C pendant 30 secondes, Élongation : 72°C pendant 20 secondes

➤ **Détection des signaux fluorescents**

Le CMV est détecté dans le canal Cycling Green. Le contrôle interne (IC) est détecté dans le canal Cycling Yellow.

➤ **Interprétation et validation des résultats**

Les étalons de quantification (CMV QS1 à QS4) doivent s'amplifier correctement. Aucun signal ne doit être détecté dans le puits témoin négatif. La lecture des résultats se fait comme suit :

- Signal CMV détecté (canal green) → Échantillon positif, même en l'absence ou faible signal IC.
- Absence de signal CMV + signal IC présent → Échantillon négatif, PCR valide.
- Aucun signal sur les deux canaux → PCR invalide (à répéter).

➤ **Quantification de la charge virale**

La charge virale est déterminée par comparaison de la valeur Ct (Cycle threshold) de l'échantillon à la courbe d'étalonnage générée à partir des standards (CMV QS1 à QS4).

Les appareillages :

Micro centrifugeuse



Vortex



Bain marie



Centrifugeuse



ROTOR-Gene Q



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifiques

جامعة سعد دحلب البلدة-1-

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA-1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master dans le domaine SNV

Filière : Science Biologique

Spécialité : Génétique

Thème

**Intérêt de la quantification de la charge virale du cytomégalovirus
par PCR en temps réel après transplantation rénale.**

Présenté par :

Soutenu le :

Benaissa Melissa

10/07/2025

Sadji selma

Devant le jury

Noms	Grade/lieu	Qualité
Dr Benyahia N.	MAA/USDB1	Président
Dr Sifi M.	MCB/USDB1	Examinatrice
Dr BERKANI L.	MAA/CHU Ben Messous	Promotrice
Dr AISSANI-EL FARTAS R.	MCB/USDB1	Co-promotrice

Année Universitaire : 2024/2025